Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
ehem. Direktor: Professor Dr. W. Dick

Untersuchungen am System Fibrinogen - Thrombin - Trasylol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Sabine Athanossopoulos, geb. Müller
aus Stadthagen

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547603_0134

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Tübingen
ehem. Direktor: Professor Dr. W. Dick

Untersuchungen am System Fibrinogen - Thrombin - Trasylol

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Sabine Athanossopoulos, geb. Müller
aus Stadthagen

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. P. Matis

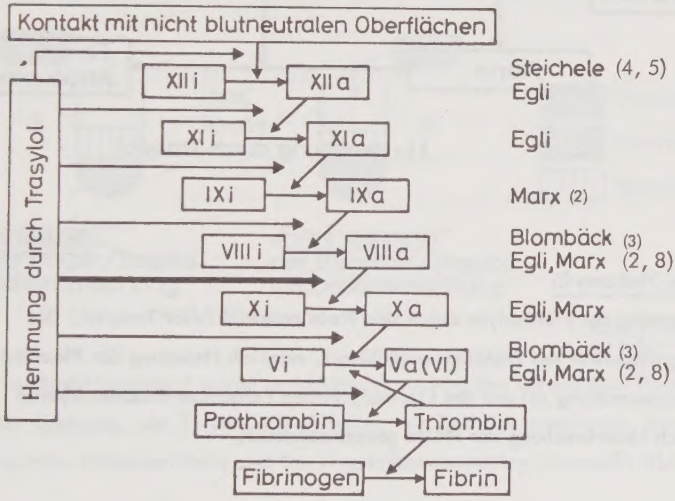
2. Berichterstatter: Professor Dr. L. Koslowski

Inhalt

	Seite
A) Einleitung und Problemstellung	1
B) Eigene Untersuchungen	3
I) Durchführung	3
II) Ergebnisse	7
III) Diskussion	23
C) Zusammenfassung	29
D) Literatur	31
Anhang	

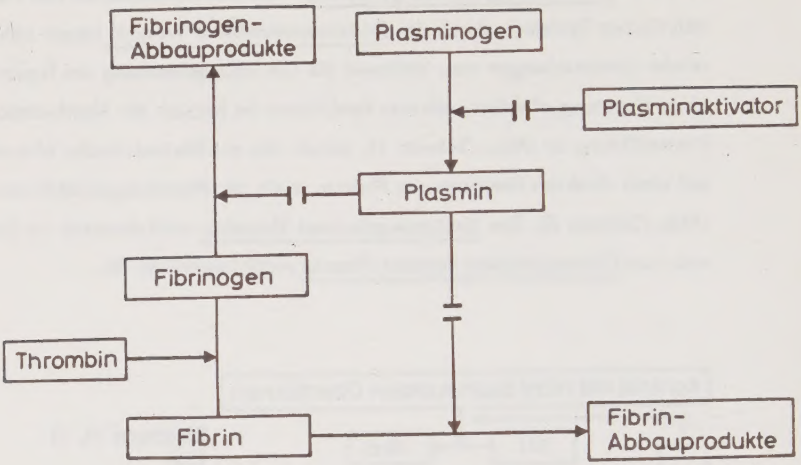
A) EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Über die Beeinflussung der Blutgerinnung - des fibrinoplastischen und fibrinolytischen Systems - durch den Proteinaseninhibitor Trasylol liegen zahlreiche Untersuchungen vor. Während die Gerinnungshemmung das Ergebnis einer Hemmung offenbar mehrerer Reaktionen im Bereich der Blutthrombokinasebildung ist (Abb./Schema 1), beruht die antifibrinolytische Wirkung auf einer direkten Hemmung des Plasmin sowie der Plasmin(ogen)aktivierung (Abb./Schema 2). Das Gerinnungsferment Thrombin wird demnach im Gegensatz zum fibrinolytischen Ferment Plasmin nicht beeinflußt (8).



Schema 1

Abb./Schema 1:
Hemmung der Blutthrombokinasebildung durch den Proteinaseninhibitor Trasylol. Die sich aus den Untersuchungen der angeführten Autoren ergebenden Angriffspunkte des Proteinaseninhibitors sind durch Pfeile gekennzeichnet (nach (1))



Schema 2

Abb./Schema 2:
Hemmung der Fibrinolyse durch den Proteinaseninhibitor Trasylol. Die Angriffspunkte des Proteinaseninhibitors, nämlich Hemmung der Plasminogenumwandlung (6) und des fibrinolytischen Fermentes Plasmin (7) sind durch Unterbrechung der Pfeile gekennzeichnet.

Mir war die Aufgabe gestellt worden, vorliegende Befunde durch Untersuchungen am System Fibrinogen-Thrombin-Trasylol zu ergänzen.

Zunächst war zu prüfen, ob die Inkubation der Reaktionsteilnehmer Fibrinogen und Thrombin mit verschiedenen Konzentrationen des Inhibitors eine Beeinflussung der Reaktion Fibrinogen-Thrombin oder gerichtet, eines Reaktionsteilnehmers erkennen läßt. - Im bejahenden Falle sollte versucht werden, diesen Effekt näher zu definieren.

B) EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. ANLAGE UND DURCHFÜHRUNG

1) Allgemeines zur Versuchsanordnung

Zum Nachweis einer etwaigen Wirkung des Proteinaseninhibitors Trasylol im System Fibrinogen-Trasylol wurde in folgender Weise vorgegangen:
Die Reaktionsteilnehmer Thrombin und Fibrinogen wurden bei konstanter Temperatur jeweils gleich lang mit Trasylol in verschiedenen Konzentrationen inkubiert. Anschließend wurden die Reaktionszeiten * bestimmt (Abb./Schema 3) und statistisch ausgewertet. Die Inkubation erfolgte mit Ausnahme eines ergänzenden Versuchs in nicht silikonierten Gläsern (II/1, 2).

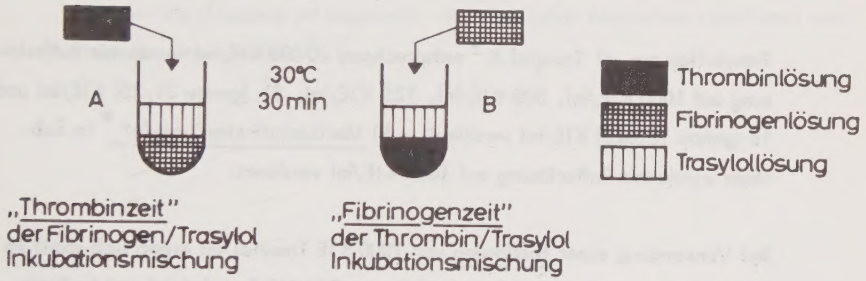


Abb./Schema 3

Der Reaktionsablauf wurde in Abhängigkeit von dem verwandten Thrombinpräparat der Lagerung, der Thrombin(test)lösung, der Reaktionstemperatur, der Beschaffenheit der Glasoberfläche und der Trasylolkonzentration untersucht (II/3 - 11).

Einzelheiten der Versuchsanordnung und Methodik werden im Interesse einer besseren Übersichtlichkeit gemeinsam mit den jeweiligen Ergebnissen beschrieben.

* Zweckmäßigerweise bezeichnet man die Reaktionszeiten nach dem zugesetzten Reagenz. Im System Plasma bzw. Fibrinogen-Thrombin spricht man von Thrombinzeit, da Thrombin das die Reaktionszeit wesentlich bestimmende Reagenz darstellt. In Analogie hierzu spricht man etwa von Heparinzeit, wenn im System Plasma - Heparin-$CaCl_2$ die Beeinflussung des Gerinnungsablaufs durch den Zusatz von Heparin bestimmt wird. Im Ansatz A von Schema 3 wird dem Reaktionsgemisch Thrombin zugegeben, die gemessene Reaktionszeit als Thrombinzeit bezeichnet. Bei Zugabe von Fibrinogen zum Reaktionsgemisch im Ansatz B bezeichnen wir diese Reaktionszeit im folgenden als Fibrinogenzeit.

2) Reagenzien

Pufferlösung: Veronal-Azetatpuffer pH 7,35

Thrombin(stamm)lösung: Thrombin-Roche, Testthrombin Behring sowie Thrombinum purum-Behring wurde in Pufferlösung (100 NIH-Einh/ml) zur sofortigen Verwendung oder Lagerung in der Tiefkühltruhe gelöst. Die Stammlösung wurde, gegebenenfalls nach Auftauen bei Zimmertemperatur, unmittelbar vor jedem Versuch mit Pufferlösung so verdünnt, daß diese Verdünnung im Ansatz: 0,1 ml Fibrinogenlösung + 0,1 ml Pufferlösung + 0,1 ml Thrombinlösung eine Reaktionszeit von 20 ± 1 Sekunde ergab. Bei manchen Versuchen wurde die Testlösung in der beschriebenen Weise auf kürzere Reaktionszeiten eingestellt.

Fibrinogenlösung: Fibrinogen Behring wurde nach Vorschrift aufgelöst und dann durch Verdünnen mit Pufferlösung eine Testlösung von 600 mg% hergestellt.

Trasylollösung: a) Trasylol K* entsprechend 20000 KIE/ml wurde mit Pufferlösung auf 1000 KIE/ml, 500 KIE/ml, 125 KIE/ml, 31 (genau 31,25) KIE/ml und 16 (genau 15,625) KIE/ml verdünnt. - b) Merthiolatfreies Trasylol* in Substanz wurde mit Pufferlösung auf 1000 KIE/ml verdünnt.

Bei Verwendung einer Testlösung von 1000 KIE Trasylol/ml ergab sich somit im Inkubationsgemisch eine Konzentration von 500 KIE Trasylol/ml und im Reaktionsgemisch eine End-Konzentration von 333 KIE/ml. (s. Abb./Schema 3).

Epsilonaminocapronsäure-Roche wurde mit Pufferlösung auf 10 mg/ml verdünnt.

* Für Überlassung der benötigten Mengen danke ich den pharmazeutischen Forschungslaboratorien der Farbenfabriken Bayer AG, Wuppertal - Elberfeld

Glasoberfläche: Silikonierung (minimaler Oberflächenkontakt) nach Vorschrift Aufrauhen der Glasoberfläche (maximaler Oberflächenkontakt) durch Verätzung.

Temperatur: Die Reaktionszeiten wurden, sofern nicht anders angegeben, bei 30°C bestimmt. Die Inkubationstemperatur betrug gleichfalls, sofern nicht anders angegeben, 30°C

Die Reaktionszeiten wurden, sofern nicht anders angegeben, in silikonierten Reagenzgläsern ermittelt.

3) Statistische Berechnung

Die Meßreihen wurden mit Hilfe des t-Testes nach Student auf Übereinstimmung miteinander geprüft. Bei einem p unter 0,05 (5%) wird die Übereinstimmung verworfen - die Annahme ist begründet, daß sich beide Meßreihen signifikant voneinander unterscheiden *.

* Für Beratung und Anleitung danke ich Herrn Priv.-Doz. Dr. P. Pauschinger, Tübingen.

II. ERGEBNISSE

1) Inkubation von Fibrinogen bzw. Thrombin mit Trasylol

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Inkubationszeit
Variabel: Trasylolkonzentration

a) Vorgehen (Abb./Schema 4): Von 40 Reagenzgläschen wurden 20 mit je 0,1 ml Fibrinogentestlösung und 20 mit 0,1 ml Thrombintestlösung beschickt. Anschließend wurde unter Registrierung der Zeit alternierend entweder 0,1 ml Pufferlösung oder 0,1 ml Trasyloltestlösung hinzupipettiert, so daß jeweils 10 Reagenzgläschen folgende Ansätze resultierten:
Fibrinogen-Puffer; Fibrinogen-Trasylol; Thrombin-Puffer und Thrombin-Trasylol. Die Testlösungen wurden bei konstanter Temperatur von 30°C inkubiert. - Nach 30 Minuten wurde diesen Inkubationsgemischen 0,1 ml Thrombinlösung bzw. 0,1 ml Fibrinogenlösung zugegeben und die Reaktionszeiten (Thrombinzeiten bzw. Fibrinogenzeiten *) ermittelt.

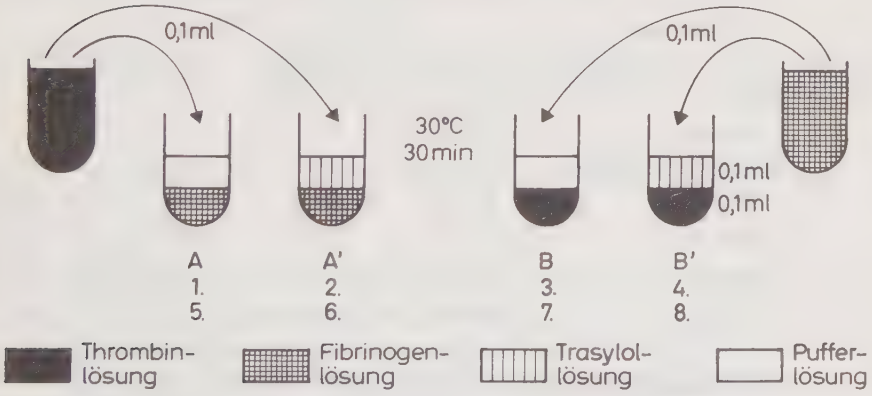


Abb./Schema 4

* S. hierzu Fußnote S. 3

Die beschriebene Versuchsanordnung ermöglicht in einem Arbeitsgang jeweils 10 Einzelbestimmungen der Reaktionszeiten in den Reaktionsgemischen A, A', B, B'. Von diesen 4 mal 10 Reaktionszeiten wurden nach Elimination des jeweils längsten und kürzesten Wertes die 8 verbleibenden statistisch ausgewertet. Verwandt wurden Trasyloltestlösungen der Konzentrationen 1000 KIE/ml, 500 KIE/ml, 125 KIE/ml, 32 KIE/ml. In der beschriebenen Versuchsanordnung wurde jede Trasylolkonzentration 6 bis 8mal getestet.

b) Ergebnis: Wie aus Tab. 1 und den Meßreihen (s. Anhang) hervorgeht, unterscheiden sich die Thrombinzeiten der Fibrinogen-Trasylol-Inkubationsmischung (A') praktisch nicht von jenen der (trasylolfreien) Fibrinogen-Puffer-Kontrollansätze (A). Die geringen Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

Die Fibrinogenzeiten der Thrombin-Trasylol-Inkubationsmischung (B') sind insgesamt kürzer als jene der (trasylolfreien) Thrombin-Puffer-Kontrollansätze (B). Diese Differenzen sind für Trasylolkonzentrationen von 1000 bis 125 KIE/ml Testlösung - in der Inkubationsmischung beträgt diese Konzentration die Hälfte, im Reaktionsgemisch ein Drittel dieser Ausgangswerte - signifikant. Lediglich bei einer Trasyllösung von 32 KIE/ml Testlösung sind die beobachteten Unterschiede nicht signifikant.

Tabelle 1: Reaktionszeiten (Sek.)

Testlösung Trasylolkonzentration	A	A'	B		B'
1000 KIE/ml	22,44	22,41	26,39	- S -	23,86
500 KIE/ml	21,85	21,08	25,18	- S -	22,93
125 KIE/ml	21,11	21,11	26,07	- S -	23,37
32 KIE/ml	20,43	20,27	22,85		22,10

Mittelwerte der Fibrinogen (B, B')- bzw. Thrombinzeiten (A, A') aus 27 Meßreihen (s. Anhang) entsprechend insgesamt 864 Einzelbestimmungen (Abb./Schema 4). Signifikante Differenzen zwischen den zu vergleichenden Mittelwerten sind jeweils mit - S - bezeichnet.

2) Inkubation von Thrombin mit Trasylol

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration, Inkubationszeit.
Variabel: Oberflächenbeschaffenheit.

a) Vorgehen (Abb./Schema 5): Bestimmung der Reaktionszeiten (Fibrinogenzeit im Ansatz B und B' (Abb./Schema 4) nach Inkubation von Thrombin mit Trasylol (Testlösung 1000 KIE/Trasylol/ml) in silikoniertem und nicht silikoniertem Glas. Im übrigen s. u. 1a.

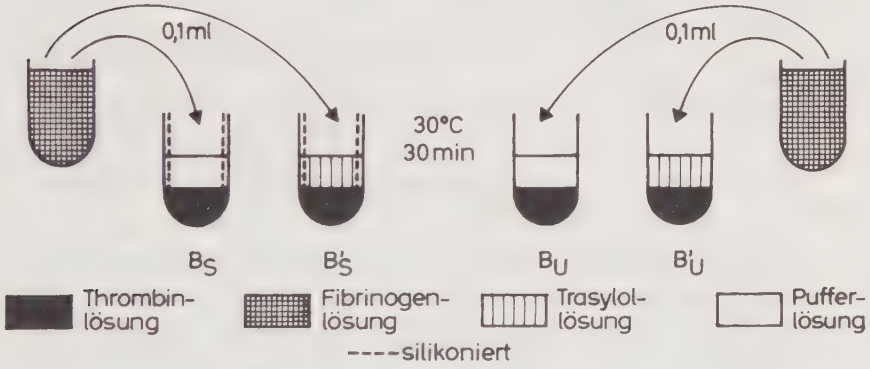


Abb./Schema 5

b) Ergebnis: Wie aus Tab. 2 hervorgeht, sind die Reaktionszeiten nach Inkubation in silikoniertem Glas kürzer. Die Differenz der Fibrinogenzeiten ist bei Inkubation im silikonierten Glas (B_s B'_s) geringer als bei Inkubation im nicht silikonierten Glas (B_U - B'_U). Die Anwesenheit von Trasylol im Reaktions- bzw. Inkubationsgemisch verringert das "Gefälle" der Fibrinogenzeiten zwischen den Inkubationsmischungen im silikonierten (B'_s) und nicht silikonierten (B'_U) Glas im Vergleich zu den in den trasylolfreien Ansätzen (B_S, B_U) gemessenen Fibrinogenzeiten.

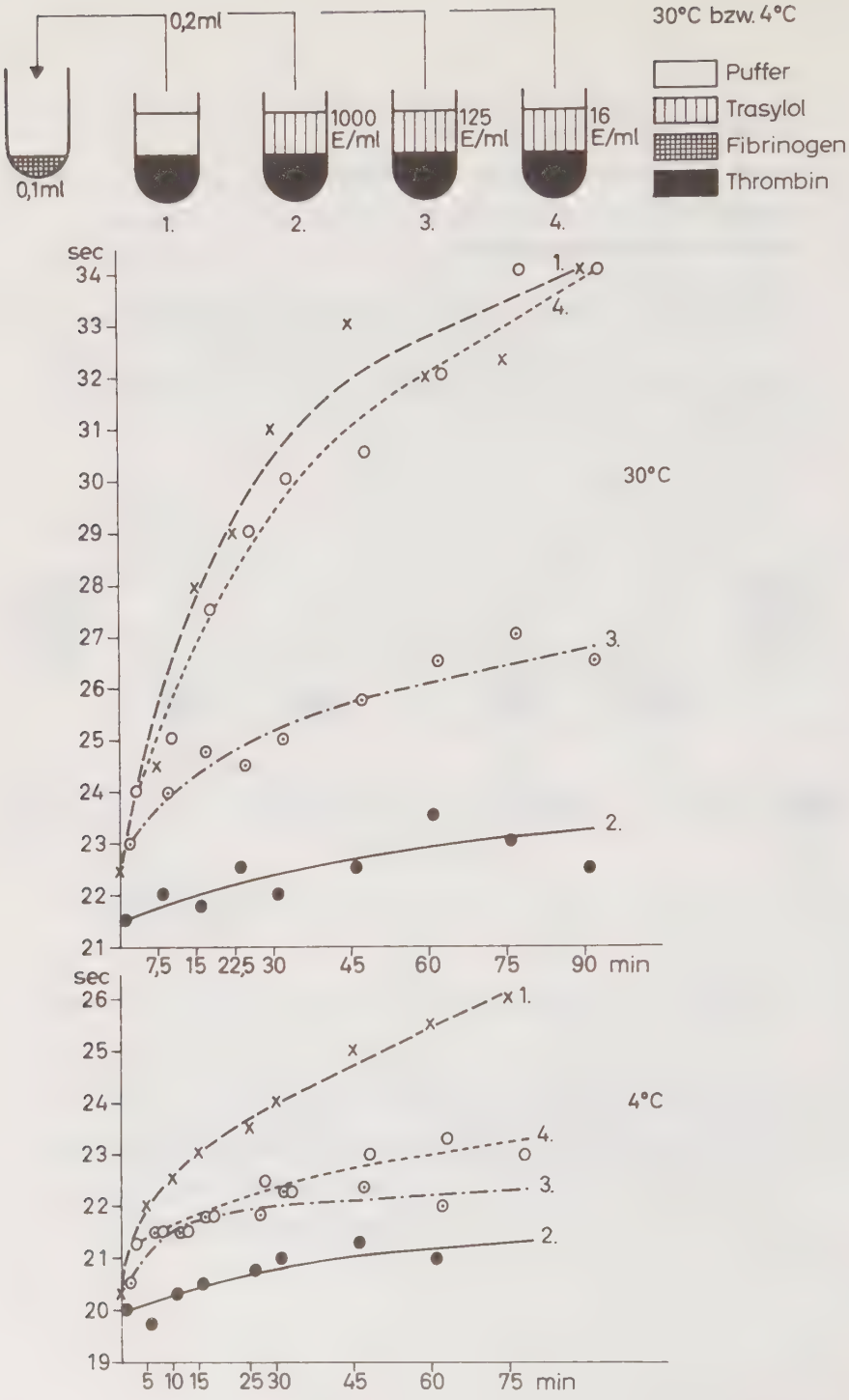

0,2ml
0,1ml
1000 E/ml
125 E/ml
16 E/ml
1.
2.
3.
4.
30°C bzw. 4°C
Puffer
Trasylol
Fibrinogen
Thrombin
sec
34
33
32
31
30
29
28
27
26
25
24
23
22
21
30°C
7,5 15 22,5 30 45 60 75 90 min
sec
26
25
24
23
22
21
20
19
4°C
5 10 15 25 30 45 60 75 min

Abb./Schema 6

Tabelle 2

Trasylol-konzentration	B_s	B'_s	B_u	B'_u
1000 KIE/ml	24,1	22,5	35,7	23,0

Im übrigen s. Text.

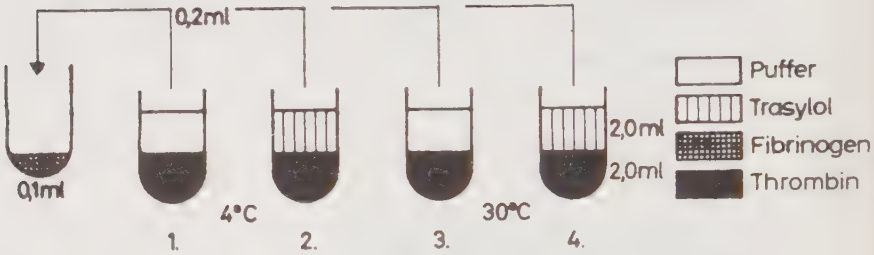
3) Inkubation von Thrombin mit Trasylol

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Inkubationstemperatur (30° C bzw. 4°C).
Variabel: Trasylolkonzentration, Inkubationszeit.

a) Vorgehen (Schema in Abb. 6 oben): Je 3 ml Thrombintestlösung wurde mit je 3 ml Pufferlösung (Ansatz 1), Trasyloltestlösung 1000 KIE/ml (Ansatz 2), 125 KIE/ml (Ansatz 3) und 16 KIE/ml (Ansatz 4) bei 30°C bzw. 4°C versetzt. In bestimmten Abständen wurden 0,2 ml dieser Inkubationsmischung 0,1 ml Fibrinogenlösung in vorbereiteten Reagenzgläschen zupipettiert und in diesem Reaktionsgemisch die Reaktionszeit (in den Ansätzen 2 und 4 sinngemäß: Thrombin-Trasylol-Zeit) bestimmt.

Die Messungen wurden in der Regel 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90 Minuten vom Beginn der Inkubation an durchgeführt. Abweichungen von diesen Zeitpunkten gehen aus der graphischen Darstellung hervor. Die Bestimmung der Reaktionszeiten der verschiedenen Inkubationsgemische erfolgte hintereinander. Da ein Meßvorgang etwa eine Minute in Anspruch nimmt, wurde das zweite Inkubationsgemisch jeweils eine Minute, das dritte zwei Minuten später angesetzt und dies bei der graphischen Darstellung berücksichtigt.

b) Ergebnis (Abb. 6 *): Die Reaktionszeiten nehmen grundsätzlich mit der Inkubationszeit zu. Diese Zunahme ist im Leeransatz Thrombinlösung - Pufferlösung (Kurve 1) am ausgeprägtesten - sie wird mit steigender Trasylollkonzentration geringer. Der Leeransatz zeigt bei einer Inkubationstemperatur von 4°C gegenüber 30°C einen vergleichsweise flachen Kurvenverlauf im Sinne einer langsameren Aktivitätsabnahme des Thrombin (mittlerer und unterer Abschnitt der Abb. 6).



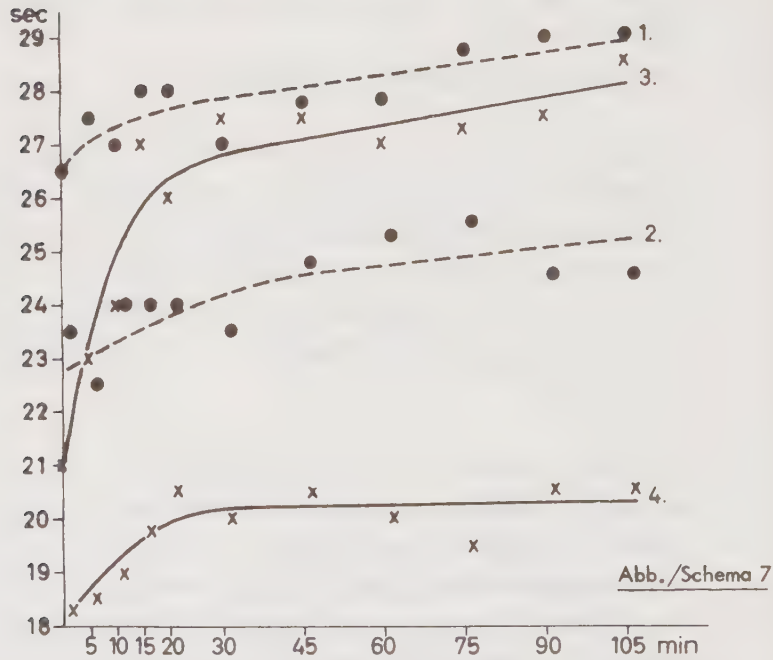


Abb./Schema 7

* Die in Abb. 6 - 12 beschriebenen Versuche wurden mehrfach wiederholt und ergaben immer gleichsinnige Ergebnisse. Die Meßpunkte in den Abbildungen entsprechen Durchschnittswerten aus vier oder mehr Einzelbestimmungen im Laufe eines repräsentativen Versuches der jeweiligen Kategorie.

4) Inkubation von Thrombin mit Trasylol

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung).
Variabel: Inkubationszeit, Inkubationstemperatur

a) Vorgehen entsprechend Schema in Abb. 7 oben, im übrigen wie unter 3a.

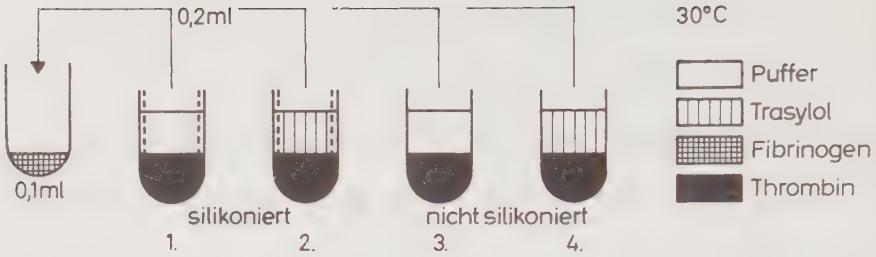
b) Ergebnis (Abb. 7): Die temperaturabhängigen Reaktionszeiten liegen nach Inkubation bei 4°C im ganzen höher (Ansatz und Kurve 1 + 2), da in diesem Reaktionsgemisch naturgemäß auch die Reaktionstemperatur etwas niedriger liegt; bei höherer Inkubationstemperatur steigen die insgesamt kürzeren Reaktionszeiten jedoch zunächst schneller an (Ansatz u. Kurven 3 + 4).

5) Inkubation von Thrombin mit Trasylol in silikoniertem und nicht silikoniertem Glas

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung), Inkubationstemperatur (30°C).
Variabel: Glasoberfläche, Inkubationszeit.

a) Vorgehen entsprechend Schema in Abb. 8 oben, im übrigen wie unter 3a.

b) Ergebnis (Abb. 8): Die Reaktionszeiten nehmen bei Inkubation in silikoniertem Glas (Ansatz u. Kurven 1 + 2) weniger zu als nach Inkubation in nicht silikoniertem Glas (Ansatz und Kurven 3 + 4). Der Abstand der Kurven 1 und 3 ist größer als jener der Kurven 2 und 4. In den trasylolhaltigen Ansätzen 2 und 4 erfolgt die Zunahme der Reaktionszeiten langsamer als in den trasylolfreien (1 - 3).


0,2ml
0,1ml
30°C
Puffer
Trasylol
Fibrinogen
Thrombin
silikoniert
nicht silikoniert
1.
2.
3.
4.

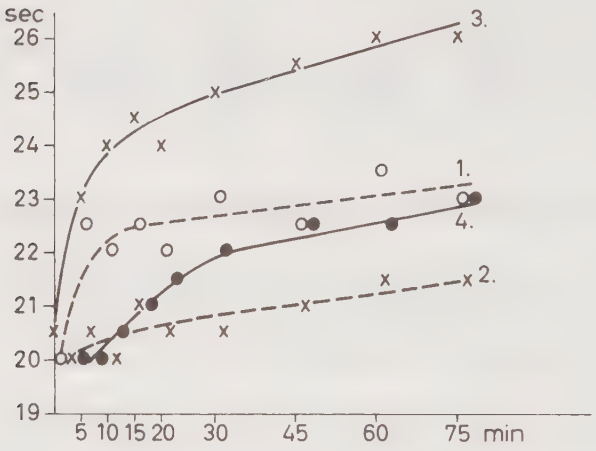

sec
26
25
24
23
22
21
20
19
5 10 15 20 30 45 60 75 min
1.
2.
3.
4.

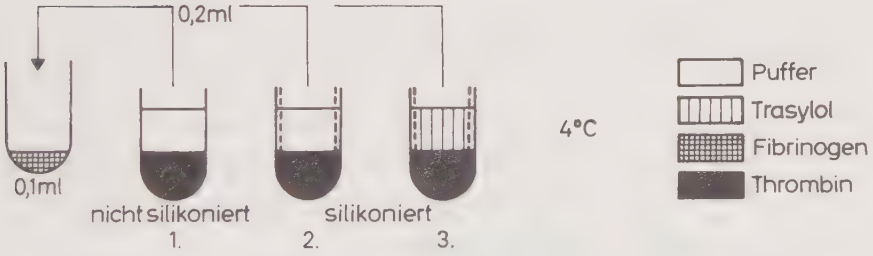
Abb./Schema 8

6) Inkubation von Thrombin mit Trasylol in silikoniertem Glas

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung), Inkubationstemperatur (4°C).
Variabel: Inkubationszeit, Glasoberfläche.

a) Vorgehen entsprechend Schema in Abb. 9 oben, im übrigen wie unter 3a

b) Ergebnis (Abb. 9): Bei Inkubation von Thrombin mit Trasylol in silikoniertem Glas und einer Temperatur von 4°C bleiben die Reaktionszeiten (Kurve 3) während 75 Minuten praktisch unverändert.



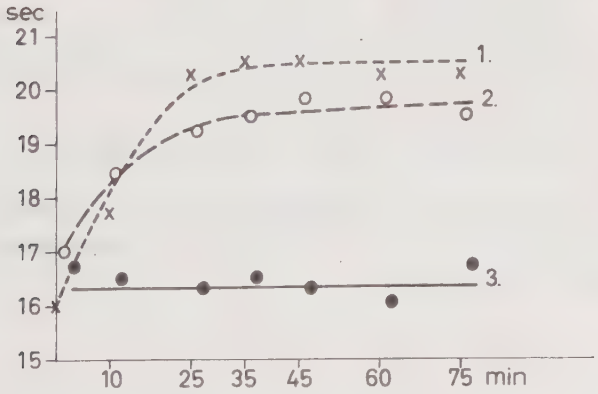


Abb./Schema 9

7) Inkubation von Thrombin mit Trasylol in nicht silikoniertem Glas

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung), Inkubationstemperatur (30°C).
Variabel: Thrombintestlösung, Inkubationszeit.

a) Vorgehen: Zum Vergleich wurden jeweils zwei Thrombinpräparate * gleichzeitig mit Puffer und mit Trasylol angesetzt.

b) Ergebnis: Alle angeführten Testlösungen ergaben unter vergleichbaren Bedingungen in trasylolhaltigen und trasylolfreien Ansätzen Reaktionszeiten gleicher Größenordnung.

* 1. Thrombin-Roche, frisch gelöst
2. Thrombin-Roche, ca. 3 Wochen eingefroren
3. Testthrombin-Behring, frisch gelöst
4. Testthrombin-Behring, ca. 3 Wochen eingefroren
5. Thrombinum purum - Behring, frisch gelöst
6. Thrombinum purum - Behring, ca. 3 Wochen eingefroren

Für die Herstellung von Thrombintestlösungen gleicher Aktivität benötigte man von den eingefrorenen Präparaten etwa 50 - 100 % mehr als von diesen Präparaten in frischem Zustand.

8) Inkubation von Thrombin mit Trasylol bzw. Epsilonaminocapronsäure

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung), Epsilonaminocapronsäure (10 mg/ml Testlösung), Inkubationstemperatur, (30°C).
Variabel: Inkubationszeit.

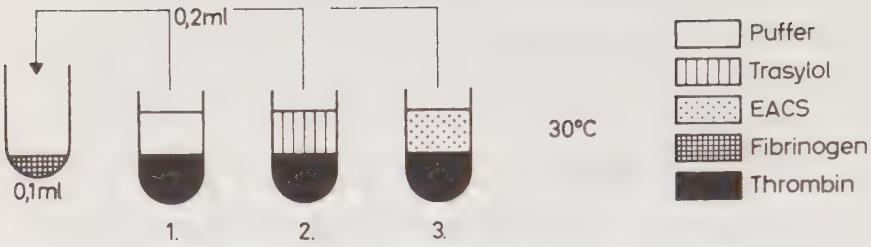
a) Vorgehen entsprechend Schema in Abb. 10 oben, im übrigen wie unter 3a.

b) Ergebnis (Abb. 10): Die Reaktionszeiten verhalten sich nach Inkubation von Thrombin mit Epsilonaminocapronsäure etwa gleich wie nach Inkubation von Thrombin mit Pufferlösung. Nach Inkubation von Thrombin mit Trasylol liegen die Reaktionszeiten deutlich niedriger (Ansatz und Kurven 2).

9) Inkubation von Thrombin mit Trasylol K und Trasylol mf im nicht silikonierten Glas.
Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung), Inkubationstemperatur (30°C).
Variabel: Inkubationszeit, Methiolatgehalt der Trasyloltestlösung.

a) Vorgehen entsprechend Schema in Abb. 11 oben, im übrigen wie unter 3a.

b) Ergebnis (Abb. 11): Die Reaktionszeiten nach Inkubation von Thrombin mit Trasylol K und Trasylol mf sind gleicher Größenordnung.



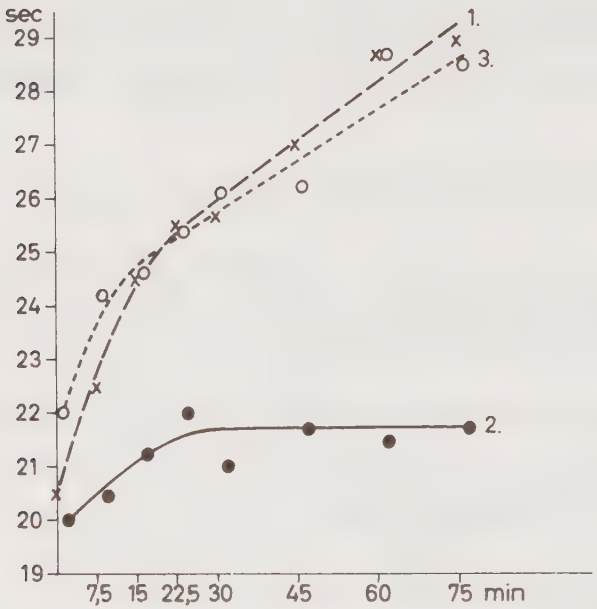
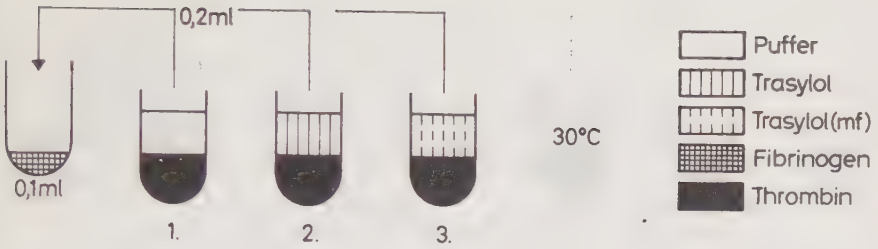


Abb./Schema 10



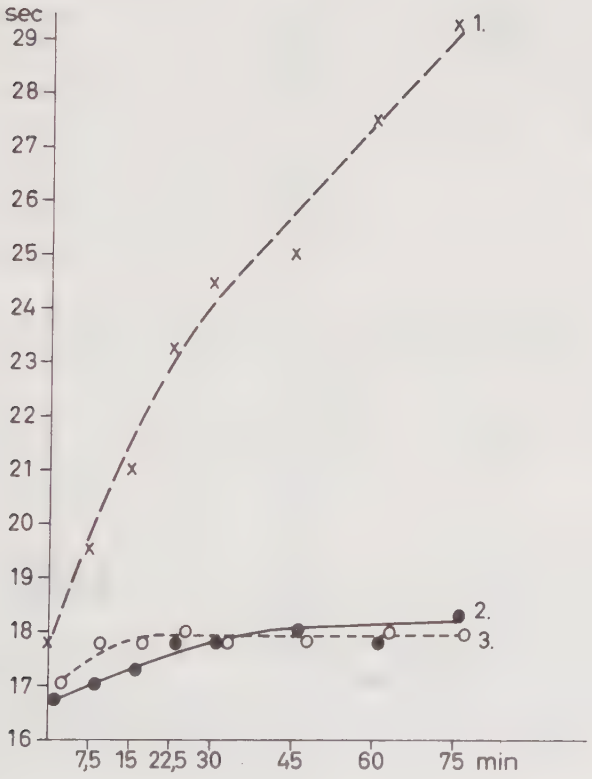


Abb./Schema 11

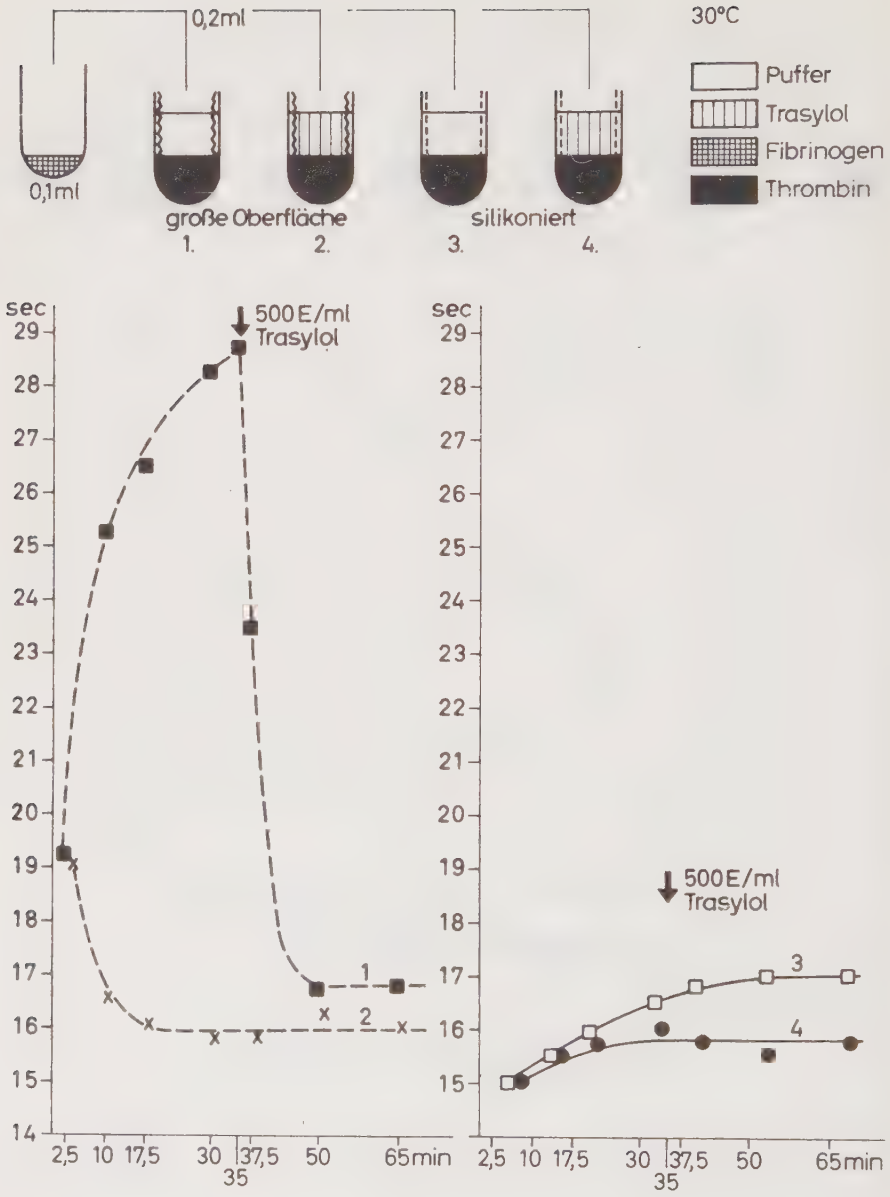


Abb./Schema 12

10) Inkubation von Thrombin mit Trasylol in silikoniertem und nicht silikoniertem Glas

Konstant: Fibrinogenkonzentration, Thrombinkonzentration, Trasylolkonzentration (1000 KIE/ml Testlösung), Inkubationstemperatur(30°C).
Variabel: Glasoberfläche (Glaswand silikoniert, nichtsilikoniert und aufgerauht).

a) Vorgehen: entsprechend Schema in Abb. 12 oben: Zur Erzielung eines maximalen Oberflächenkontaktes wurde die Glaswand der für die Inkubation benutzten Reagenzgläser durch Verätzung aufgerauht; in das Inkubationsgemisch wurden in gleicher Weise aufgerauhte Glaskügelchen (Durchmesser 2 - 3 mm) eingebracht. Weitere Ansätze in silikonierten Gläsern. Die Thrombintestlösung wurde im Gegensatz zu den anderen Versuchen auf 14,5 Sekunden eingestellt. Nach 35 Minuten wurden die trasylolfreien Thrombin-Puffer-Ansätze 1 und 3 auf 500 KIE/ml Trasylol eingestellt, entsprechend der Trasylolkonzentration in den Ansätzen 2 und 4. Im übrigen Vorgehen wir unter 3a.

b) Ergebnis Abb. 12): Bei maximalem Oberflächenkontakt nahmen die Reaktionszeiten des trasylolfreien Thrombin-Puffer-Gemisches in kurzer Zeit sehr stark (von 14,5 auf 19,5 Sek.) zu. (Kurve 1 in Abb. 12). Gibt man diesem Ansatz (in der Abbildung nach 35 Min.) Trasylol zu, kommt es zu einer deutlichen Verkürzung (Abb. 12a, Kurve 1) der Reaktionszeiten.

Die Reaktionszeiten des Thrombin-Trasylol-Inkubationsgemisches nehmen bei maximalem Oberflächenkontakt (Abb. 12, Ansatz und Kurve 2) ab, sofern die Thrombinlösung zuerst (!) in das präparierte Gefäß und die Trasyloltestlösung anschließend (!) eingebracht worden war (Ansatz 2). Bei in umgekehrter Reihenfolge angesetzten Inkubationsmischungen entsprechen die Reaktionszeiten etwa Ansatz bzw. Kurve 3 der Abb. 12.

III. DISKUSSION

Der zunehmende Aktivitätsverlust einer Thrombinlösung ist konzentrations-, milieu- und glaswandabhängig (13, 14). Diesem gerinnungsanalytische Arbeiten störenden Effekt wirkt man in der Praxis dadurch entgegen, daß man zunächst eine Stammlösung anfertigt, die fallweise verdünnt wird, diese Lösungen bei niedriger Temperatur (Eiswasser) und in silikonierten Gefäßen aufbewahrt.

Thrombin wird bis zur "Sättigung" an Glas adsorbiert. Dieser Effekt tritt umso deutlicher hervor, je geringer die Thrombinkonzentration und je größer die Glasoberfläche, je größer der Quotient Glasoberfläche:Thrombin ist.

Je glatter eine Oberfläche ist, desto geringer ist sie, umso schneller wird die Thrombinsättigung erreicht.
Von der Glätte zu trennen ist der Begriff der Unbenetzbarkeit, etwa durch Silikonierung. Die Adsorption einer Substanz aus flüssigem Milieu an eine Oberfläche ist verständlicherweise wesentlich abhängig von der Benetzbarkeit der Oberfläche. (Un)benetzbarkeit ist Folge des physikalischen und chemischen Zustandes einer Fläche (Ladungsänderung, Ladungseffekt, Zetapotential) und nicht notwendigerweise der Glätte. Die Adsorption an Glas ist konzentrationsabhängig, eine Temperaturabhängigkeit wahrscheinlich.

Während dieser Aktivitätsverlust durch den Glaseffekt (Entzug) in gewissem Sinne (wenigstens zunächst) ein scheinbarer ist, so kommt ein echter Aktivitätsverlust von Thrombin in Lösung durch Umstrukturierungsvorgänge an der Molekülobefläche zustande. Dieser Aktivitätsverlust ist infolge der Konzentrationsabhängigkeit der Umstrukturierungsvorgänge konzentrationsabhängig und temperaturabhängig, wobei die Anfälligkeit des Thrombin für den Aktivitätsverlust mit zunehmendem Reinheitsgrad steigt. Dies gilt jedoch zunächst in diesem Umfang für einen enzymatischen Aktivitätsverlust nicht.

Grundsätzlich ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß bestimmte Verunreinigungen im System, d.h. Verunreinigungen, die Thrombin und Fibrinogen betreffen können, für die Aktivitätsverhältnisse von Bedeutung sind. Hier wäre auch an eine fibrinolytische Aktivität in diesem System zu denken.

Die fibrinolytische Aktivität von Thrombinpräparaten ist bekannt (15). So ließ sich zeigen, daß für diese offenbar zwei Komponenten verantwortlich sein können, eine fibrinolytische Aktivität ohne Thrombinaktivität, sowie eine, die mit dem Thrombinmolekül identisch zu sein scheint. Thrombin war nicht fibrinolytisch aktiv, wenn es in Konzentrationen angewandt wurde, die für die Fibringerinnung erforderlich sind. In sehr hohen Konzentrationen aktivierte es auf Fibrinplatten Plasminogen (16).

Während eine Zerstörung oder ein Aktivitätsverlust des Thrombins durch fibrinolytische Aktivitäten nicht zu erwarten ist, könnte eine solche allenfalls das Fibrinogen "angreifbarer" machen und somit eher eine Aktivitätszunahme des Thrombins im System Fibrinogen - Thrombin vortäuschen, denn einen Aktivitätsverlust.

Unsere experimentellen Beobachtungen lassen sich im einzelnen wie folgt diskutieren:

Zu 1) Alle registrierten Reaktionszeiten sind länger als die Ausgangswerte (s. u.a. Tab. 1), auf die die Thrombinlösung ursprünglich eingestellt worden war. Zudem waren die Thrombinzeiten kürzer als die Fibrinogenzeiten. Dies deutet darauf hin, daß es sich bei der Verkürzung im Ansatz B' gegenüber B nicht etwa um eine Thrombinaktivierung durch Trasylol handelt, sondern daß ein normalerweise einsetzender Aktivitätsverlust der Thrombinlösung im Ansatz B durch Trasylol eingeschränkt wird.

Die Thrombinlösung zur Bestimmung der Reaktionszeiten im Ansatz A und A' wurde während der Versuchsdauer bei gleicher Temperatur aufbewahrt. Daß sie gegenüber der Thrombinlösung in den Ansätzen B und B' einen geringeren Aktivitätsverlust zeigte, läßt sich durch den Konzentrationsunterschied, den kleineren Quotienten Glasoberfläche:Thrombin (s. oben) erklären.

Zu 2) Die Aktivitätsabnahme des Thrombin ist im silikonierten System (B) geringer als im unsilikonierten (B_U). Trasylol gleicht das Fehlen der Silikonierung aus ($B_S - B'_U$). Die Aktivitätsabnahme von Thrombin ist im unsilikonierten System stärker, sie wird in beiden Fällen durch Trasylol gemildert ($B'_S - B'_U$). Dieser Thrombin-Aktivitäts-Abnahme-Hemmeffekt des Trasylol ist im nicht silikonierten System stärker.

Zu 3, 4) Bei niedriger Temperatur scheint der Aktivitätsverlust des Thrombin geringer. Bei Inkubation von 0 - 4° liegen die Reaktionszeiten insgesamt infolge der niedrigen Temperaturen im Reaktionsgemisch höher. Hier ist der Anstieg des ersten Teils der Kurve als Ausdruck der Aktivitätsabnahme(für weitergehende Aussagen ist dieser Befund jedoch nicht zu werten) geringer.

Zu 5) Die Kurven verlaufen bei Inkubation im silikonierten System in Übereinstimmung mit den Beobachtungen unter 2) flacher als bei Inkubation im nicht silikonierten, die Kurven der beiden Trasylolinkubationsmischungen sind näher aneinander gerückt: die Silikonierung spielt in Anwesenheit von Trasylol nicht mehr eine so entscheidende Rolle.

Zu 6) Die Bedeutung der Temperatur für die Aktivitätsabnahme einer Thrombinlösung kommt hier besonders deutlich zum Ausdruck; eine Kombination von Silikonierung + niederer Temperatur + Trasylol führt zu einer auffallenden Konstanz der Thrombinaktivität.

Zu 7,8) Da noch die Möglichkeit zu diskutieren war, daß der unter 1) festgestellte Trasyloleffekt mit der bekannten antifibrinolytischen Wirkung des Trasylol zu erklären sei und sich gegen fibrinolytisch wirkende Verunreinigungen der Thrombinpräparate bzw. fibrinolytisch wirkende Verunreinigungen des Substrates, des Fibrinogens richtet, wurden verschiedene Thrombinpräparate - jeweils frisch gelöst bzw. nach längerem Einfrieren in EACS-freien und -haltigen Ansätzen untersucht. Verschiedene Thrombinpräparate verhalten sich bei Verwendung der in tiefgefrorenem Zustand aufbewahrten bzw. frisch zubereiteten Testlösung hinsichtlich der untersuchten Kriterien gleich. Die Einführung von EACS in das Testsystem spielt keine Rolle, so daß Plasminogenaktivitäten für den festgestellten Aktivitätsverlust keine Rolle spielen.

Eine Beeinflussung der Aktivitätsabnahme durch den Zusatz von Merthiolat zu Trasylol ist nach 9) unwahrscheinlich.

Zu 10) In der Thrombininkubationsmischung findet sich bei vergrößertem Oberflächenkontakt - bereits in den ersten 2 bis 3 Min. - eine enorm gesteigerte Aktivitätsabnahme. Dieser Aktivitätsverlust läßt sich durch nachträgliche Einführung von Trasylol in das Reaktions- bzw. Inkubationsgemisch weitgehend, allerdings nicht quantitativ reduzieren. Wenn man Thrombinlösung zuerst in das aufgerauhte Glasgefäß einbringt und anschließend Trasylol hinzufügt, kommt es zu einer Verkürzung der Reaktionszeiten.

Diese "Aktivitätszunahme" würde noch am ehesten verständlich, wenn man annimmt, daß das an die Glaswand adsorbierte Thrombin durch die nachträgliche Einführung von Trasylol in das System von der Glaswand freigesetzt wird.

Die in unseren Versuchen verwandte Thrombinkonzentration (1 - 5 Einheiten/ml) im Testsystem verleiht dem Oberflächenkontakt eine besondere Bedeutung. Der Anteil des Aktivitätsverlustes durch andere, eingangs erwähnte Faktoren ist aufgrund unserer Versuchsanordnung nicht abzuschätzen. Die Milieuabhängigkeit des Aktivitätsverlustes wurde durch den konstanten PH-Wert und die stets gleichbleibenden Reaktionsteilnehmer eingeschränkt.

Trasylol imponiert bei unseren Versuchen in einer Konzentration von 500 - 125 KIE/ml Inkubationsgemisch als "thrombinkonservierend" - in erster Linie offenbar als Folge einer Oberflächenaffinität. Dieser Befund könnte zur weiteren Deutung experimenteller und klinischer Beobachtungen beitragen.

C) ZUSAMMENFASSUNG

Der unter anderem infolge Adsorption an die Glaswand zu erwartende Aktivitätsverlust einer Thrombinlösung wird durch Trasylol eingeschränkt. Die im silikonierten System bzw. bei niedrigeren Temperaturen geringere Aktivitätsabnahme einer Thrombinlösung wird durch Trasylol weiter verringert.

Die antifibrinolytische Wirkung des Trasylol ist für diesen thrombinaktivitätskonservierenden Effekt ohne Bedeutung. Er dürfte vielmehr Folge einer besonderen Oberflächenaffinität des Trasylol sein.

D) LITERATUR

(1) Haberland, G.L. und P. Matis: Trasylol, ein Proteinaseninhibitor bei chirurgischen und internen Indikationen. Med. Welt 1967:1367

(2) Werle, E., R. Marx, I. Trautschold und K.E. Reichenbach-Klinke: Zit. nach (8)

(3) Blombäck, B., M. Blombäck und P.I. Olsson: Action of a Proteolytic Enzyme Inhibitor on Blood Coagulation in Vitro. In.(17) S. 33

(4) Steichele, D.F.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Trypsin-Kallikrein-Inhibitors Trasylol auf die Kontaktaktivierung des Blutes. In (17) S. 71

(5) Herschlein, H.J. und D.F. Steichele: Die Hemmung der Hyperkoagulabilität des Blutes. Med. Welt 1964:1314

(6) Marx, R.: Blutstillung mit Fibrinolyseinhibitoren. Münch. med. Wschr. 108:1267 (1966) sowie Schmutzler R. und H. Fürstenberg: Fibrinolyse und Blutverlust bei Prostataoperationen und deren Beeinflussung durch Antifibrinolytika. Dtsch.Med. Wschr. 91:297 (1966)

(7) Marx, R., P. Clemente, E. Werle, E. Appel: Zum Problem eines Antidotes in der internen Thrombotherapie mit Fibrinolyseinhibitoren. Blut V:367 (1959)

(8) Marx, R.: Kallikreininhibitoren als Gerinnungshemmstoffe. In (18) S. 89

(9) Matis, P., W. Mayer und W. Nagel: Die Wechselbeziehungen zwischen antibiotischen und gerinnungshemmenden Maßnahmen. Erg. Chir. Orthop. 42:366 (1959)

(10) Ross, A.: Zur Beeinflussung der Reaktion Thrombin - Fibrinogen durch Antibiotika. Dissertation Tübingen, 1961

(11) Jürgens, J. und F.K. Beller: Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalysen. G. Thieme, Stuttgart 1958

(12) Hiepler, E.: Einführung in die Methodik der Blutgerinnungsbestimmung, Laborarztverlag Würzburg, sowie Einführung in die Methodik der Blutgerinnungsbestimmung, hrsg. von Dt. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden

(13) Duckert, F.: Persönliche Mitteilung

(14) Schröer, H.: Persönliche Mitteilung

(15) Hudemann, S.: Thrombinwirkung und Fibrinolyse in gereinigten Gerinnungssystemen. Kolloid-Z. 92:189 (1940)

(16) Brakman, P., P. Klug und T. Astrup: Fibrinolytic Activity of Thrombin Preparations. Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) XI:234 (1964)

(17) Gross, R. und G. Kroneberg (Hrsgb.):Neue Aspekte der Trasylol Therapie. Band 1. Schattauer, Stuttgart 1966

(18) Marx, R., H. Imdahl, G.L. Haberland (Hrsgb.): Neue Aspekte der Trasylol Therapie. Band 2. Schattauer, Stuttgart 1968

ANHANG

Messreihen zu Tabelle 1

	A	A'	B		B'	1 000 KIE ml/Testlösung
	21,5	21,0	24,0		23,0	
	21,0	20,0	26,0		23,5	
	22,0	20,5	24,0		23,0	
	21,5	20,0	26,0		23,5	
(1)	22,0	21,0	28,0		23,5	
	23,0	22,0	28,0		23,5	
	23,0	22,0	27,5		24,0	
	22,0	21,5	28,0		24,0	
	176,0	168,0	211,5		188,0	
	22,0	21,0	26,4	- S -	23,5	
	25,0	24,0	26,5		25,0	
	24,5	24,5	28,0		24,5	
	24,0	24,5	26,5		25,5	
	25,0	25,0	28,5		26,5	
(2)	24,5	25,0	28,0		25,5	
	25,0	24,5	28,5		26,5	
	25,0	25,5	28,5		26,0	
	26,0	26,5	28,0		27,0	
	199,0	199,5	222,5		206,5	
	24,9	24,9	27,8	- S -	25,8	
	21,5	20,5	28,0		25,0	
	21,5	21,0	28,0		25,5	
	21,0	21,5	26,0		24,0	
	22,5	22,0	26,0		23,5	
(3)	23,0	23,0	25,0		26,0	
	23,0	23,0	29,0		25,0	
	24,0	23,0	27,0		26,5	
	22,0	22,5	26,0		25,0	
	178,5	176,5	215,0		200,5	
	22,3	22,1	26,9	- S -	25,1	
	22,0	22,5	28,0		23,5	
	23,0	23,0	29,0		24,5	
	22,5	23,0	30,0		25,0	
	22,0	24,5	35,0		24,0	
(4)	24,0	23,0	35,0		25,0	
	23,5	24,0	32,5		26,0	
	25,0	23,0	34,0		27,0	
	23,0	25,0	31,0		26,0	
	185,0	188,0	254,5		201.0	
	23,1	23,5	31,8	- S -	25,1	

	A	A'	B		B'
	19,5	19,0	27,0		23,0
	18,5	20,5	25,0		22,5
	20,0	19,5	29,0		24,0
	20,0	21,0	27,5		24,0
(5)	20,5	20,5	25,0		23,0
	21,0	21,5	26,0		23,0
	20,5	21,5	27,0		24,0
	21,5	21,0	28,0		23,5
	161,5	164,5	214,5		187,0
	20,2	20,6	26,8	- S -	23,4
	21,5	21,0	23,5		21,0
	21,5	22,0	23,5		23,0
	22,0	22,0	23,5		22,5
	22,0	23,0	25,0		22,0
(6)	23,0	23,5	24,0		23,5
	23,5	23,0	25,0		24,0
	24,0	24,0	25,0		23,5
	24,5	24,5	24,5		22,5
	182,0	183,0	194,0		182,0
	22,8	22,9	24,3	- S -	22,8
	22,0	21,0	25,0		22,5
	22,0	22,0	23,0		23,0
	21,0	22,5	24,5		22,0
	21,5	21,5	23,0		23,0
(7)	23,0	22,0	23,5		23,0
	22,0	22,5	23,5		23,0
	22,0	22,5	23,5		22,0
	23,0	22,5	24,0		22,0
	176,5	176,5	190,0		180,5
	22,1	22,1	23,8	- S -	22,6
	20,5	21,0	24,5		23,0
	22,0	21,5	24,0		22,5
	21,0	22,5	24,5		22,0
	21,5	23,0	24,0		23,0
(8)	22,5	22,0	25,0		24,0
	22,0	22,0	23,0		22,5
	22,0	21,0	24,0		23,5
	22,5	22,5	24,0		21,5
	174,0	175,5	193,0		182,0
	21,8	21,9	24,1	- S -	22,8

Die Differenz des Mittelwertes der Summe der Meßreihen B/B' 1 - 8 ist signifikant.

	A	A'	B	B'	500 KIE ml/Testlösung
(9)	24,5	23,0	26,5	25,0	
	25,0	23,0	27,0	26,0	
	24,5	24,0	28,5	25,0	
	25,5	25,0	27,0	24,0	
	25,5	26,0	29,0	25,0	
	25,0	25,0	31,0	25,0	
	25,5	25,0	29,0	26,0	
	25,0	26,0	30,0	25,0	
	200,5	197,0	228,0	201,0	
	25,1	24,6	28,5 - S -	25,1	
(10)	19,5	18,0	22,0	21,5	
	19,0	18,5	22,0	21,5	
	19,0	19,0	22,0	22,5	
	19,0	18,0	23,0	22,0	
	19,0	19,5	21,5	22,0	
	20,0	19,5	22,5	22,0	
	20,0	19,5	21,5	21,0	
	20,0	19,0	22,5	22,0	
	155,5	151,0	177,0	174,5	
	19,4	18,9	22,3	21,8	
(11)	20,5	21,0	25,5	22,5	
	21,5	20,5	25,0	23,5	
	22,0	21,0	25,5	22,5	
	20,0	21,0	24,0	23,0	
	22,5	22,0	27,0	22,5	
	21,0	21,0	27,0	22,0	
	22,0	21,0	26,5	22,5	
	21,5	20,5	25,0	23,0	
	171,0	168,0	205,5	181,5	
	21,4	21,0	25,7 - S -	22,7	
(12)	24,0	24,0	28,0	26,0	
	24,0	23,0	27,5	25,0	
	24,0	22,5	27,5	26,0	
	23,5	24,0	30,0	26,0	
	23,0	23,0	27,0	26,0	
	25,0	24,0	30,0	26,0	
	25,0	25,0	29,0	26,5	
	25,0	24,5	28,0	25,0	
	193,5	190,0	227,0	206,5	
	24,2	23,8	28,4 - S -	25,8	

	A	A'	B		B'
	20,5	20,0	24,0		22,0
	20,5	19,0	23,0		21,5
	22,0	20,5	26,0		22,0
	22,0	21,0	24,0		21,0
(13)	21,0	19,5	24,0		22,5
	21,0	22,0	23,5		22,0
	21,5	20,5	24,0		22,0
	21,0	21,5	25,0		20,5
	169,5	164,0	193,5		173,5
	21,2	20,5	24,2	- S -	21,7
	19,0	20,0	21,5		20,5
	18,0	18,0	22,5		21,5
	19,5	21,0	22,5		21,0
	19,0	20,0	21,5		20,5
(14)	20,5	19,5	22,0		20,0
	21,5	18,0	22,5		20,5
	21,0	20,5	23,5		21,5
	20,0	21,5	21,5		20,0
	158,5	158,5	177,5		165,5
	19,8	19,8	22,2	- S -	20,7

Die Differenz des Mittelwertes der Summe der Meßreihen B/B' 9 - 14 ist signifikant.

	A	A'	B		B'	125 KIE ml/Testlösung
(15)	17,0	18,0	19,5		19,0	
	17,5	17,5	19,0		19,0	
	18,5	17,5	20,0		19,5	
	17,5	18,0	19,0		19,5	
	18,0	18,5	21,5		19,0	
	18,5	18,0	20,5		19,5	
	18,0	17,5	21,0		19,0	
	18,5	19,0	21,5		19,0	
	143,5	144,0	162,0		153,5	
	17,9	18,0	20,3	- S -	19,2	
(16)	19,0	17,5	22,0		19,0	
	17,5	17,5	21,0		20,5	
	17,5	17,5	22,0		19,5	
	18,0	18,0	21,5		20,0	
	18,0	17,5	20,0		20,0	
	18,5	18,0	21,0		19,0	
	19,0	18,0	20,0		20,5	
	19,5	19,0	19,0		19,5	
	147,0	143,0	166,5		158,0	
	18,4	17,9	20,8	- S -	19,8	
(17)	22,0	22,0	27,0		26,5	
	22,0	22,0	25,0		25,0	
	24,5	23,0	29,0		26,0	
	23,0	22,5	28,0		27,5	
	24,0	23,5	28,0		25,5	
	24,0	24,0	27,0		27,0	
	22,0	25,0	26,0		26,0	
	24,0	25,0	28,5		25,0	
	185,5	187,0	218,5		208,5	
	23,2	23,4	27,3		26,1	
(18)	21,0	21,0	27,5		24,0	
	21,5	21,0	25,0		22,0	
	21,0	20,0	28,0		23,0	
	21,0	21,5	27,0		22,0	
	21,0	21,5	28,0		24,0	
	22,0	21,0	25,5		24,0	
	22,5	21,0	26,0		24,5	
	22,0	21,0	28,0		23,0	
	172,0	168,0	215,0		186,5	
	21,5	21,0	26,9	- S -	23,3	

	A	A'	B		B'
	22,5	23,0	26,5		25,0
	23,5	23,0	28,0		25,0
	24,0	24,0	27,5		26,0
	21,5	25,0	29,5		25,5
(19)	23,0	23,0	29,5		25,0
	23,5	24,0	32,0		24,5
	23,5	24,0	31,5		24,5
	22,0	25,0	32,0		26,0
	183,5	191,0	236,5		201,5
	22,9	23,9	29,6	- S -	25,2
	20,5	19,0	28,0		22,5
	21,0	20,5	28,0		24,5
	20,0	19,0	26,0		22,5
	20,0	19,5	26,0		23,0
(20)	21,0	20,0	25,0		22,0
	21,5	19,0	28,0		23,5
	20,5	21,0	26,0		23,5
	21,0	21,5	27,0		24,0
	165,5	159,5	214,0		185,5
	20,7	19,9	26,8	- S -	23,2
	23,0	23,5	29,5		26,5
	22,5	23,5	30,0		27,0
	22,5	23,5	29,5		28,0
	23,0	23,0	31,0		27,5
(21)	23,0	23,5	30,0		28,0
	23,0	25,0	33,0		26,5
	24,5	24,0	33,0		26,0
	24,5	24,5	32,0		26,0
	186,0	190,5	248,0		215,5
	23,3	23,8	31,0	- S -	26,9

Die Differenz des Mittelwertes der Summe der Meßreihen B/B' 15-21 ist signifikant.

	A	A'	B	B'	31 KIE ml/Testlösung
(22)	18,5	18,5	21,0	20,5	
	18,0	18,0	20,5	22,0	
	19,5	19,0	21,0	20,0	
	19,5	18,0	19,5	19,0	
	18,5	19,5	20,0	20,5	
	19,0	19,0	20,5	21,5	
	18,5	18,5	21,5	21,5	
	19,0	18,0	21,0	20,0	
	150,5	148,5	165,0	165,0	
	18,8	18,6	20,6	20,6	
(23)	18,0	18,0	22,0	20,0	
	18,0	18,5	22,5	20,0	
	19,0	18,5	21,0	23,5	
	18,5	18,0	20,5	22,0	
	18,0	18,0	20,5	23,0	
	19,0	18,0	21,5	22,0	
	18,5	18,0	20,5	21,0	
	18,0	18,5	20,5	20,0	
	147,0	145,5	169,0	171,5	
	18,4	18,2	21,1	21,4	
(24)	20,0	22,0	26,0	26,0	
	20,5	22,5	28,0	26,0	
	22,0	21,0	27,0	25,5	
	22,0	23,0	26,0	26,0	
	23,0	23,0	28,0	26,5	
	23,5	23,0	29,0	26,5	
	24,0	23,5	27,0	26,5	
	24,0	21,5	28,0	27,0	
	179,0	179,5	219,0	210,0	
	22,4	22,4	27,4 - S -	26,3	
(25)	20,0	19,0	22,5	22,0	
	18,5	18,5	22,5	21,5	
	19,5	19,5	23,0	20,5	
	19,5	18,0	21,0	22,0	
	20,0	19,5	23,0	21,0	
	20,0	19,0	23,0	21,0	
	20,0	19,5	21,5	21,5	
	20,0	19,0	21,0	19,5	
	157,5	152,0	177,5	169,0	
	19,7 - S -	19,0	22,2 - S -	21,1	

	A	A'	B		B'
	21,5	21,0	23,0		22,0
	21,0	21,5	22,0		21,5
	21,0	21,5	24,0		22,0
	22,5	22,0	22,5		22,0
(26)	21,0	22,0	21,5		21,5
	21,5	20,5	23,0		21,5
	22,5	22,5	23,5		19,5
	21,5	21,5	22,0		19,0
	172,5	172,5	181,5		169,0
	21,6	21,6	22,7	- S -	21,1
	22,0	21,5	24,0		23,0
	21,5	22,5	24,5		23,5
	21,0	21,5	23,0		22,0
	21,5	21,5	24,0		24,0
(27)	22,0	22,5	22,5		21,5
	21,0	22,0	22,5		23,0
	22,0	22,0	22,5		20,5
	22,5	21,0	22,0		20,5
	173,5	174,5	185,0		178,0
	21,7	21,8	23,1		22,3

Die Differenz des Mittelwertes der Summe der Meßreihen B/B 22 -27 ist nicht signifikant.

Herrn Professor Dr. P. Matis danke ich für Überlassung des Themas und Anleitung bei den Untersuchungen.

Lebenslauf

Am 3.8.1943 wurde ich, Sabine Ruth Lore Athanassopoulos, als Tochter des Internisten Dr.med. Karl-Heinrich Müller und der prakt. Ärztin Dr.med. Eva Müller, geb. Fuhrmann, in Stadthagen (Schaumburg-Lippe) geboren.

Meine Schulzeit beendete ich 1962 mit dem Abitur an der altsprachlichen Abteilung des Gymnasiums Stadthagen. Nach einem halbjährigen Auslandsaufenthalt begann ich zum Wintersemester 1962/63 das Medizinstudium an der Universität Gießen und setzte es nach dem Vorphysikum in Tübingen fort. Hier legte ich 1965 das Physikum ab.

Während der folgenden 6 klinischen Semester war ich bis zum Staatsexamen Ende 1968 weiter an der Universität Tübingen eingeschrieben.

1968 erfolgte meine Eheschließung mit dem Kandidaten der Psychologie Lukas Athanassopoulos aus Athen.

Im August 1969 begann ich meine Tätigkeit als Medizinalassistentin an der Universitäts-Kinderklinik Tübingen und setze sie seit November 1969 an der Medizinischen Universitäts-Poliklinik Tübingen fort.

Die experimentellen Arbeiten für meine Dissertation habe ich 1966 und 1967 während meiner klinischen Semester an der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen durchgeführt.

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681